动 物 学 研 究 2004, Aug. 25 (4): 341-346 CN 53-1040/Q ISSN 0254-5853
Zoological Research

蓝氏贾第虫核纤层蛋白基因的初步研究

陈万群[1,2], 文建凡[1,*], 卢思奇[3]

(1. 中国科学院昆明动物研究所, 细胞与分子进化重点实验室, 云南 昆明 6502231;
2. 暨南大学 医学院生化教研室, 广东 广州 510632; 3. 首都医科大学 细胞生物学系, 北京 100054)

摘要: 贾第虫一度被认为是迄今已知的最原始的真核细胞, 但近来争议日盛。利用PCR和测序等技术, 对蓝氏贾第虫 (*Giardia lamblia*) 的核纤层蛋白 (lamin) 基因进行了研究。结果表明: 蓝氏贾第虫基因组中存在一个编码具有明显lamin特征的基因序列。如该基因序列的3′-端具有编码与核内膜亲和的特征性模体 (motif) CaaX的序列; 具有B型lamin基因所特有的高度保守的27 bp片段, 该片段编码高度保守的位于α螺旋杆状区的9氨基酸片段等。同时, 这些序列特征又与多细胞的后生动物存在一定差异。这些事实说明在贾第虫中已经进化产生了典型真核细胞的B型lamin (基因) 或至少是类似B型的lamin (基因), 该生物的进化地位可能并非过去所认为的那么原始。

关键词: 蓝氏贾第虫; 核纤层蛋白基因; 进化
中图分类号: Q21; Q959.113.8 **文献标识码**: A **文章编号**: 0254-5853(2004)04-0341-06

A Preliminary Study on the Lamin Gene of *Giardia lamblia*

CHEN Wan-qun[1,2], WEN Jian-fan[1,*], LU Si-qi[3]

(1. *Key Laboratory of Cellular and Molecular Evolution*, *Kunming Institute of Zoology*, *the Chinese Academy of Sciences*, *Kunming* 650223, *China*; 2. *Dept. of Biochemistry*, *Medical College*, *Jinan University*, *Guangzhou* 510632, *China*; 3. *Dept. of Cell Biology*, *Capital University of Medical Sciences*, *Beijing* 100054, *China*)

Abstract: *Giardia lamblia* was long recognized as the most primitive eukaryote, but this is challenged recently by several analyses. With PCR and sequencing techniques, lamin gene of *G. lamblia* was investigated in the present paper. The results showed that its genome had a gene coding a peptide sequence with distinct features of lamin. For example, its 3′-end region had a sequence coding the unique motif CaaX, which attached to the inner nuclear membrane in lamins; like type B lamin genes, it had a 27 bp conserved region, which coded a conserved 9 aa fragment in α-helix rod domain. Simultaneously, there existed some differences between these features of *G. lamblia* and of metazoan. Our results suggest that *G. lamblia* has already possessed typical eukaryotic type B lamin (gene) or at least type B-like lamin (gene), the evolutionary position of *G. lamblia* may not be as primitive as it was considered before.

Key words: *Giardia lamblia*; Lamin gene; Evolution

核纤层 (nuclear lamina) 是存在于细胞核内膜之下并与核内膜紧密结合的一层纤维蛋白网络结构。它不仅对保障核膜的结构稳定性、保持核的形状和大小起作用, 还参与了细胞分裂时核膜的崩解和重建、核孔复合体的锚定、染色质的组织以及DNA的复制等 (Stick, 1995; Moir et al, 1995; Stuurman et al, 1998)。组成核纤层的蛋白 (lamin) 分为A型和B型, 由不同的基因编码。它们具有共同的一级结构, 即包括N-端的头部区、中间的α螺旋杆状区以及C-端的尾部区三部分。其中, 尾部区域存在着lamin的两个显著的特征序列: 核定位信号序列 (NLS) 和与核内膜亲和的CaaX (C, 半胱氨酸; a, 脂肪族氨基酸; X, 任何氨基酸) 序列 (Loewinger & McKeon, 1988; Holtz et al,

收稿日期: 2004-03-23; 接受日期: 2004-04-08
基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30070362, 30170135); 中国科学院知识创新工程重要方向项目 (KSCX2-SW-101C)
* 通讯作者 (Corresponding author), E-mail: wenjf@mail.kiz.ac.cn

1989；Krohne et al，1989)。CaaX 中的半胱氨酸(C) 在A型 lamin 翻译后的加工中被切去，在B型 lamin 中为进行异戊烯化的位点。此外，在B型 lamin 的中间α螺旋杆状区的 C－末端，还存在一个极为保守的区域 (Erber et al，1998)，该区一般是由 27 bp 碱基编码的9个氨基酸组成的保守片段。

贾第虫(*Giardia*) 属于双滴虫类原生动物。由于曾被认为具有一系列的原始特征，如"不具线粒体等细胞器"等，因此许多人认为：它是极为原始的真核生物，进化地位处在原核生物向真核生物过渡的中间环节，具有重要的进化生物学研究价值。因而它一度成为热门的研究对象。然而随着研究的深入，近年来有人发现其核基因组中有线粒体来源的基因 (Roger et al，1998；Tachezy et al，2001；Arisue et al，2002)，并进而有人发现其细胞内具有类似线粒体的细胞器 (Tovar et al，2003)。因此它的"不具线粒体"的这一原始特征受到了严重挑战，其进化地位也就存在新的争论。核纤层作为典型真核细胞普遍存在的重要核内结构，该结构及其蛋白基因在这一生物中的情形是怎样的呢？对这一问题的研究不仅可为探讨贾第虫进化地位提供新证据，也有助于探讨核纤层这一重要结构的起源进化问题。然而，有关核纤层及其基因 (即 lamin 基因) 的研究多是在多细胞动物 (后生动物) 上进行的 (Erber et al，1999)。虽曾有人在植物 (Meier，2000，2001) 和真菌类 (酵母) (Georgatos，1989；Mewes et al，1998) 上显示出了核纤层结构的存在，但在已测序的基因组中并未找到相应的 lamin 基因。因此，有人怀疑它们核纤层结构的真实存在，并提出了另具一套结构体系的可能 (Meier，2001)。至于低等的单细胞真核生物，尽管有些学者和本实验室也曾在眼虫类和包括贾第虫在内的源真核生物类上报道过具有类似的核纤层结构和成分的可能存在 (Georgatos et al，1989；Wen & Li，1998；Wen，2000)，并且近来我们也曾对眼虫类 lamin 基因进行过研究 (Chen & Weng，2003)，但还没有对贾第虫这一特别引人注目生物的 lamin 基因的研究报道。

1 材料与方法

1.1 材 料

Giardia lamblia WB 株为首都医科大学寄生虫学教研室卢思奇教授等分离建立的纯培养株，本实验室用添加10%小牛血清、0.5 mg/mL 牛胆汁液以及2 mg/mL L－型半胱氨酸的改进型 TYI-S-33 培养液 (Keister，1983)，在无菌条件下37 ℃恒温培养。

1.2 总 DNA 的提取

将培养有贾第虫的培养管预冷后用吸管吹打管壁，使附着的贾第虫脱落，600 *g* 离心收集，用 PBS 液 600 *g* 离心洗涤2～3次并转移至1.5 mL Eppendoff 管中。往收集的细胞沉淀中加入 450 μL STE 缓冲液 (30 mmol/L Tris-HCl，200 mmol/L EDTA，50 mmol/L NaCl，pH 8.0)，并加入 SDS 液和蛋白酶K溶液使终浓度分别为1% 和 200 μg/mL。充分混匀后于55 ℃温箱消化数小时至透明。水饱和酚:氯仿:异戊醇(25:24:1)、氯仿:异戊醇(24:1)各抽提1次，异丙醇沉淀出总 DNA，经70%冷乙醇洗涤，干燥后溶于 TE (pH 8.0) 或去离子水中，－20 ℃长期保存或于4 ℃冰箱中备用。

1.3 Lamin 基因3′－端区域的扩增

引物为：forward primer P0010——5′ACA ATC CTC CAT CIG 3′；reverse primer P0012——5′TTA CAT GAT GGA GCA 3′。它们是根据已报道的较为低等生物的 lamin 基因的 cDNA 序列 (包括水螅 AJ005934、海葵 AJ005937、曳腮虫 AJ005935、槭海星 AJ132102、海盘车 AJ005938、紫海胆 AF320295、玻璃海鞘 AJ271075 和线虫 X74027) 比对结果，选取尾部保守区域设计出的通用引物。以上述提取的贾第虫的总 DNA 为模板进行 PCR 扩增和测序。由于片段较长，为获得完整序列，还根据初测的序列设计中间引物 Gla-P0013 和 Gla-P0014：forward primer Gla-P0014——5′CTg CAT ATg AgC ATg TgC 3′；reverse primer Gla-P0013——5′AAg CAT TgT ACA CgC 3′，前者与 P0012、后者与 P0010 分别配对用于 PCR 扩增测序以获得完整序列。PCR 反应体系为：10×buffer 5 μL，25 mmol/L Mg^{2+} 3 μL，2 mmol/L dNTPs 2 μL，10 pmol/μL 的一对引物均1.5 μL，1.5 U *Taq* 酶，模板 DNA 约100 ng，加灭菌超纯水至总体积为50 μL。反应参数如下：95 ℃预变性2 min；94 ℃变性1 min，45 ℃退火1 min，72 ℃延伸1 min，35个循环；72 ℃后延伸5 min。PCR 产物用少量胶回收试剂盒 (上海华舜生物工程有限公司 W5212) 回收。

1.4 DNA 序列测定和分析

每个 PCR 产物都经过2次正反重复测序，以确保结果的准确性。测序试剂采用 BigDye Terminator Cycle Sequencing Kit 2.0 (ABI)。用377全自动

序列分析仪（ABI）进行序列测定。

序列分析采用 DNASTAR 软件包中的 Editseq 和 Megalign 进行。

2 结果与分析

2.1 获得蓝氏贾第虫 lamin 尾部区的基因序列

利用已知 lamin 基因 3′-端区域的保守序列设计出的引物从蓝氏贾第虫总 DNA 上扩增出了一条强阳性带，约 1.0 kb。经测序后获得长度为 975 bp 的序列（不包括两端引物区），如图 1 所示。

当本研究在进行中，蓝氏贾第虫的基因组在测定中并逐渐在公开已测得的大量数据（网址：http：//evol5.mbl.edu/blast/blast.cgi）。因此我们将本研究所测序列在该数据库中进行 Blast 搜索，找到 30 条相关序列。通过比对分析发现：我们所测的序列与其中的 29 条相关序列的对应区段除引物区个别位点外（因为是设计的通用引物）完全一致。因此我们可将所测序列的引物区，P0010（5′-ACAATCCTCCATCIG-3′）和 P0012（5′-TTACATGATGGAGCA-3′）所分别对应的区域，根据搜索到的序列来确定（图 1 中序列两端的下划线部分即是这样确定的）。以此序列为基础，将在贾第虫基因组数据库中检索到的相关序列片段（主要是 NF030SB、PJ2156SA、EI0412RA 和 KJ1300RA）进行拼接，获得了一个长度为 3 583 bp 的更长序列。该序列在我们所测序列的基础上，分别向 5′-端和 3′-端延长了 2 512 bp 和 96 bp。

2.2 序列分析

对上述所测序列进行分析，发现它具有 lamin 基因序列的如下两个显著特点。其一，在图 1 所示序列区段的3′-端(即引物P0012—部分所对应的区域)包含有序列“TGC TCC AGC TGG”，它所编

5′-AGAACCCTCCATCGGCAGAATCGGTAAAGGACTCTTCAGAGAATGAATCCGGTACATCAGTTA
AAGGACTATTGGCAGAGTACATAGCACCCCTTCTGCAACCTATCTTTCAGCTGTATGTGCAGATGA
TTGCTTTTAAGTCTCAAGTTCTCGGGGAAACAGATATATCTGGAGAAGAGCTTTATTCTAGGCTGA
GCCAGGACACGTTGGCAATCAGACGTCTGGCGGCAGACCGGGCCAAGATTCTAGCAGGCAATAG
ATATCTCCTTAAGGAGTACATCATCTCATCACCTGACGTGTTTGCTGCCTTTGTAGGCCATGTTAC
GCTTCTTCAACAGCAGAATCAGGTAACTGCATATGAGCATGTGCTTCTGAATCAGATAGTTGCGT
GTACAATGCTTGCACATAACGATAGTGAAGGGTTCCAGCGTATAGTCACTGACGCACTTCAGCAA
TCACGCAGTGTCCTCTTCAGTCAAGAGATTACAGCGATTCTCTTCTCTCCTGAAGCCTTTATTAGTT
ACTTTGGGCTAGACAATGTTTCCGTCTCGAACCCTGTTTCTCTAACGACACCCACGCCGCTACCAA
GCTTATTACTCCGCAGGAAGATTATGTTCGCGATACAGCAAGCCAAGGAAGTGCTTAATCGCGTT
CATGACGCATCTGGAACAACCTCGAGTCAAAGCGATCTTATAGACAGGTTGAAGGACATCACACG
TATGCTATTGGTAATTGCATCCAAAGGCTTTTTATCCGCAACACCTAAATACTTTGAGCAGCAGCT
TTCCAACCAACGCGTTCTCCTAGGGGGGACCATTTCTGGTGGGGTGGCAAAGGTTGATCTTGAGA
ATCATGATGCGACAGCAACAGACATTGAGCACGCCCACAGCTGGCTCGAGCGCTGCTTAATCAGT
AGCTTGCAGTGCATTTCCCTGAACCAGAATGACTTCCTTCAATATC**TGCTCCAGCTGG**ACT -3′

图 1 本研究测得的蓝氏贾第虫 lamin 基因 3′-端的序列

Fig.1 3′-teminal sequence of putative *G. lamblia* lamin gene obtained by PCR in this study

利用基于已知 lamin cDNA 序列比对结果设计出的引物，以蓝氏贾第虫总 DNA 为模板进行 PCR 扩增、测序所获得的序列。其中位于两端具下划线的片段分别为两引物对应的区域，其序列是根据贾第虫基因组数据库中对应的序列来确定的（见文中说明）。3′-端下划线部分中的黑体字母片段编码“CSSW”氨基酸序列，具有 lamin 的“CaaX”特征序列结构。

Nucleotide sequence of the PCR product (the primers were designed according to known lamin cDNA sequences of a series of lower metazoan, the template was *G. lamblia* total DNA). The letters underlined in both ends are corresponding to the primers, whose sequences were confirmed according to the genomic data of *G. lamblia*. The bold letters at the 3′-end is the region coding the motif “CSSW”, which is the characteristic sequence “CaaX” of lamins.

码的氨基酸序列为“半胱氨酸－丝氨酸－丝氨酸－色氨酸”即“CSSW”，这符合 lamin 的特征序列“CaaX”结构。但此特征序列与其他已知的多细胞动物的相应序列相比存在如下两个特点：①虽然“CaaX”中的 X 可为任一氨基酸，但已报道的多细胞后生动物此处的 X 多为甲硫氨酸（M），而贾第虫为色氨酸（W）；②在已报道的 lamin 基因序列中，在编码“CaaX”的密码之后紧接着就是终止密码子，但贾第虫在编码“CaaX”的序列之后存在一个 90 bp 的“插入”片段，然后紧接着出现连续两个终止密码子（TAG TAA）。其二，在拼接获得的序列中，在离我们所测得的序列上游，存在一个前述的在已知的 B 型 lamin 的中部 α 螺旋杆状区的 C－末端区所具有的高度保守的 27 bp 区段：“TATCTGAATGATGTGGAGGGTGATGAG”（在 CaaX 区上游的 nt2750—nt2782 处）。该位置也恰好位于相当于已知的 B 型 lamin 的 α 螺旋杆状区 C－末端的相应位置（如在水螅 lamin 的 cDNA 序列中，该 27 bp 保守片段即是位于“CaaX”编码区上游的 nt502—nt528 处）。贾第虫的该保守区域与其他已报道的 B 型 lamin 的相应区域序列的比较如表 1 所示。

由表 1 可以看出，已报道物种的 lamin 在该保守区段无论是碱基序列还是氨基酸序列都具有高度的保守性。贾第虫在该保守区域内同样与它们具有很高的同源性。就氨基酸序列来说，贾第虫的第 1 位酪氨酸（Y）、6 位谷氨酸（E）和 9 位谷氨酸（E）与其他物种的完全一样，都是高度保守的；它的第 7 位甘氨酸（G）则与极大多数物种的一样；而它的第 5 位缬氨酸（V）和其他物种的亮氨酸（L）为性质相似的极性氨基酸，其结构只是在 R 基团上相差一个 $-CH_2$；它的第 8 位的天冬氨酸（D）则和其他物种的谷氨酸（E）也是同为性质十分相似的非极性氨基酸，其结构也只是在 R 基团上相差一个 $-CH_2$。尽管在第 2，3，4 位上与其他物种的差异较大，但其他物种之间在这三个位置上也存在一定差异。这些分析表明贾第虫在该区域与其他物种一样有着高度的保守性。

表 1 所获贾第虫基因序列的 27 bp 区及其编码的 9 氨基酸区与其他已知生物 lamin B 基因相应区域的比较

Table 1 Comparison of a 27 bp region and its 9 aa fragment with the corresponding conserved sequences of lamin B genes from known organisms

物种 Species	登录号 GenBank accession No.	27 bp 保守区 27 bp conserved aera	27 bp 保守区对应的氨基酸序 aa sequence coded by 27 bp conserved aera
水螅 *Hydra vulgaris*	AJ005934	1111- TAT AGA AAG TTA TTG GAA GGA GAA GAA -1137	YRK LLEGEE
海葵 *Tealia* sp.	AJ005937	1003- TAC AGG AAA ATG CTT GAA GGG GAA GAA -1029	YRKMLEGEE
线虫 *Caenorhadbitis elegans*	X74027	1126- TAC CAA GCT CTC CTT GAG GGT GAG GAG -1152	YQA LLEGEE
曳腮虫 *Priapulus caudatus*	AJ005935	1144- TAT CGC AAG ATG TTG GAG GGT GAA GAG -1170	YRKMLEGEE
槭海星 *Astropecten brasiliensis*	AJ132102	1159- TAC CGC AAG CTA CTG GAA GGA GAA GAA -1185	YRKLLEGEE
海盘车 *Asterias rubens*	AJ005938	883- TAC CGT AAA CTC CTT GAA GGA GAG GAG -909	YRKLLEGEE
紫海胆 *Strongylocentrotus purpuratus*	AF320295	1171- TAT CGC AAA CTC CTG GAG GGA GAG GAG -1197	YRKLLEGEE
玻璃海鞘 *Ciona intestinalis*	AJ271075	1114- TAT CGA AAG CTG TTG GAA GAA GAA GAA -1140	YRKLLEEEE
柄海鞘 *Styela clava*	AJ271371	1135- TAT CGT AAA TTA CTG GAA GAA GAA GAG -1161	YRKLLEEEE
蓝氏贾第虫 *G. lamblia*		TAT CTG AAT GAT GTG GAG GGT GAT GAG	YLNDVEGDE
贾第虫序列与已知序列的同源程度 Similarity level of the sequences between *Giardia* and other species		** : ** * : ** * : ** ** :	* · * : · *

* ——表示贾第虫与其他物种（或极大多数）完全一致；·——表示贾第虫与多数物种一致；:——表示贾第虫的氨基酸与其他物种的相应氨基酸性质相似。

* , the sequences in *G. lamblia* are completely identical to those in other species; ·, the sequences in *G. lamblia* are identical to those in the majority of other species; :, the amino acids in *G. lamblia* have similarly character with those in other species.

3 讨 论

在真核生物的几大类群中，目前只在多细胞动物上同时证明了核纤层结构及其基因的存在。在植物和真菌中虽有不少研究报道它们核纤层结构的存在，但一直未能找到 lamin 基因（Meier，2000，2001；Mewes et al，1998）。至于低等单细胞真核生物，有人认为它们不具有核纤层结构，更无人研究其 lamin 基因。但有些学者和本实验室曾在酵母、眼虫类和包括贾第虫在内的一些低等单细胞真核生物上都报道过类似的核纤层结构和成分的可能存在（Georgatos et al，1989；Wen & Li，1998；Wen，2000）。要进一步研究它们的基因，往往就会遇到很大的困难，即：由于高等多细胞动物与低等的单细胞真核生物相距甚远，以高等多细胞动物上获得的序列数据作为参考设计引物来扩增低等单细胞生物的相应的基因往往会由于差异较大而无法扩增。这也是为什么迄今很少有这方面研究报道的一个重要原因。在本研究中我们尽管挑选了一些相对低等的多细胞动物的序列作为参考对象，参照其保守区域设计引物，但在更为低等的贾第虫上还是遇到了难以扩增或扩增特异性很差等问题。本文参考已知 lamin 的很保守的片段设计了多对引物对 lamin 基因较保守的 3′-端区域进行多次扩增尝试之后，其中才有一对引物能成功扩增出图 1 所示的序列片段。但要在此基础上向两端扩展以获得该基因的全序列则遇到了更大的困难，尝试了很多引物均未扩增成功。幸运的是，在本工作进行到此时，国际上测定的蓝氏贾第虫的基因组数据库逐步被公开。因此我们可利用已得到的序列在该数据库中进行 blast 搜索，结果检索到多个相关片断，对这些片断进行拼接获得了一条长约 3 583 bp 的序列。但遗憾的是由于该基因组尚未完成、数据库尚不完整，所拼接成的 3 583 bp 序列仍不是完整的基因序列。但是，通过对该序列进行分析，我们已经发现了它具有 lamin 基因的两个重要的显著特征，即：①3′-端具编码与核内膜亲和的特征性模体（motif）CaaX 的序列；②中间区段具有 B 型 lamin 所特有的位于 α 螺旋杆状区的 27 bp 高度保守序列。然而，我们未能在该序列中找到作为 lamin 的另一个序列特点的核定位信号。这可能是目前已报道的 lamin 基因序列均为 cDNA 序列，而我们获得的是 DNA 序列，可能含有内含子，因此难以寻找到核定位信号。或许在将来获得 cDNA 序列后，能够寻找到该信号。

总之，我们从蓝氏贾第虫基因组中获得了具有明显 lamin 基因序列特点的基因片段序列。且该序列明显相似于多细胞动物的 B 型 lamin 基因（如具有 α 螺旋杆状区的 27 bp 高度保守序列)。我们曾报道，通过 Western blot 检查发现在蓝氏贾第虫细胞中存在着相当于 B 型 lamin 的成分（Wen & Li，1998）。这与本实验结果不谋而合。这些结果互相印证，进一步说明了蓝氏贾第虫细胞中已经进化产生了典型真核细胞的 B 型 lamin（基因）或至少是类似 B 型的 lamin（基因)。同时，这一结果与前面提到的近来在贾第虫中发现线粒体来源的基因和类似线粒体细胞器（Roger et al，1998；Tachezy et al，2001；Arisue et al，2002；Tovar et al，2003）一样，提示该生物的进化地位可能不像原来所认为的那样原始。

参考文献：

Arisue N, Sanchez LB, Weiss LM, Muller M, Hashimoto T. 2002. Mitochondrial-type hsp70 genes of the amitochondriate protists, *Giardia intestinalis*, *Entamoeba histolytica* and two microsporidians [J]. *Parasitol Int*., **51**: 9-16.

Chen WQ, Wen JF. 2003. A preliminary study on the lamin-like gene of *Astasia longa* [J]. *Zool*. *Res*., **24** (1): 39-43. [陈万群，文建凡. 2003. 眼虫 *Astasia longa* 类核纤层蛋白基因的初步研究. 动物学研究，**24** (1): 39-43.]

Erber A, Riemer D, Bovenschulte M, Weber K. 1998. Molecular phylogeny of metazoan intermediate filament proteins [J]. *J*. *Mol*. *Evol*., **47**: 751-762.

Erber A, Riemer D, Hofemeister H, Bovenschulte M, Stick R, Panopoulou G, Lehrach H, Weber K. 1999. Characterization of the *Hydra* lamin and its gene: A molecular phylogeny of metazoan lamins [J]. *J*. *Mol*. *Evol*., **49** (2): 260-271.

Georgatos SD, Maroulakou I, Blobel G. 1989. Lamin A, lamin B and lamin B receptor analogues in yeast [J]. *J*. *Cell Biol*., **108**: 2069-2082.

Holtz D, Tanaka RA, Hartwig J, McKeon F. 1989. The CaaX motif of lamin A functions in conjunction with the nuclear localization signal to target assembly to the nuclear envelope [J]. *Cell*, **59** (6): 969-977.

Keister DB. 1983. Axenic culture of *Giardia lamblia* in TYI-S-33 medium supplemented with bile [J]. *Trans*. *R*. *Soc*. *Trop*. *Med*. *Hyg*., **77**: 487-488.

Krohne G, Waizenegger I, Hoger TH. 1989. The conserved carboxy-terminal cysteine of nuclear lamins is essential for lamin association with the nuclear envelope [J]. *J*. *Cell Biol*., **109** (5): 2003-2011.

Loewinger L, McKeon F. 1988. Mutations in the nuclear lamin pro-

teins resulting in their aberrant assembly in the cytoplasm [J]. *EMBO J*., **7** (8): 2301-2309.

Meier I. 2000. A novel link between ran signal transduction and nuclear envelope proteins in plants [J]. *Plant Physiol*., **124** (4): 1507-1510.

Meier I. 2001. The plant nuclear envelope [J]. *Cell. Mol. Life Sci*., **58**: 1774-1780.

Mewes HW, Hani J, Pfeiffer F, Frishman D. 1998. MIPS: A database for protein sequences and complete genomes [J]. *Nucleic Acids Res*., **26** (1): 33-37.

Moir RD, Spann TP, Goldman RD. 1995. The dynamic properties and possible functions of nuclear lamins [J]. *Int. Rev. Cytol*., **162B**: 141-182.

Roger AJ, Svard SG, Tovar J, Clark CG, Smith MW, Gillin FD, Sogin ML. 1998. A mitochondrial-like chaperonin 60 gene in *Giardia lamblia*: Evidence that diplomonads once harbored an endosymbiont related to the progenitor of mitochondria [J]. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **95**: 229-234.

Stick R. 1995. The Cytoskeleton [M]. Greenwich CT: JAI Press. 257-296.

Stuurman N, Heins S, Aebi U. 1998. Nuclear lamins: Their structure, assembly and interactions [J]. *J. Struct. Biol*., **122** (1-2): 42-66.

Tachezy J, Sanchez LB, Müller M. 2001. Mitochondrial type iron-sulfur cluster assembly in the amitochondriate eukaryotes *Trichomonas vaginalis* and *Giardia intestinalis*, as indicated by the phylogeny of IscS [J]. *Mol. Biol. Evol*., **18**: 1919-1928.

Tovar J, Leon-Avila G, Sanchez LB, Sutak R, Tachezy J, van der Giezen M, Hernandez M, Muller M, Lucocq JM. 2003. Mitochondrial remnant organelles of *Giardia* function in iron-sulphur protein maturation [J]. *Nature*, **426**: 172-176.

Wen JF. 2000. The nuclear matrix of *Euglena gracilis* (Euglenophyta): A stage of nuclear matrix evolution [J]. *Biol. Cell*, **92** (2): 125.

Wen JF, Li JY. 1998. Nuclear matrix of the most primitive eukaryote *Archezoa* [J]. *Sci. China Ser. C*, **28** (5): 423-430. [文建凡, 李靖炎. 1998. 最原始的真核生物——源真核生物的核骨架. 中国科学 (C辑), **28** (5): 423-430.]